Med 164

Aus der Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf

Direktor: Prof. Dr. G. Schubert

Das Verhalten der Nukleosidphosphate in verschiedenen Organen von Ratten und Siebenschläfern nach Ganzkörperbestrahlung mit 800 r.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität Hamburg

vorgelegt von

Werner Lüllwitz

aus Schmaatz/Pom.

Hamburg 1961

Druck: Robert Pulm, Köln, Breite Straße 155/57, Ruf 21 72 91

Aus der Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf

Direktor: Prof. Dr. G. Schubert

Das Verhalten der Nukleosidphosphate in verschiedenen Organen von Ratten und Siebenschläfern nach Ganzkörperbestrahlung mit 800 r.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität Hamburg

vorgelegt von

Werner Lüllwitz

aus Schmaatz/Pom.

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am 21. Dezember 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. G. Malorny
Referent: Professor Dr. G. Schubert
Korreferent: Professor Dr. R. Prevot

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	PROBLEMSTELLUNG	1
II.	MATERIAL UND METHODE	3
III.	ERGEBNISSE	10
IV.	DISKUSSION	21
V.	ZUSAMMENFASSUNG	34
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	35

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0062

PROBLEMSTELLUNG

In zunehmendem Maße hat sich die strahlenbiologische Forschung im letzten Jahrzehnt von rein morphologischen Studien abgewandt. Man begnügt sich nicht mehr mit einer rein descriptiven Darstellung der Auswirkungen von ionisierenden Strahlen auf einen lebenden Organismus, sondern versucht durch Studium von Organisation und Dynamik biochemischer Reaktionsabläufe das äußere Erscheinungsbild des strahlengeschädigten Organismus zu deuten. Denn für die Mehrzahl aller morphologisch-histologisch faßbaren Strahlenschäden darf man wohl annehmen, daß ihr Ausgangspunkt in biochemischen Veränderungen innerhalb der Zellen und Gewebe zu suchen ist.

Aufgrund der überragenden Bedeutung der Enzyme für die Dynamik von Stoffwechselketten erklärt sich die gesteigerte Aktivität der strahlenbiologischen Forschung auf diesem Gebiet.

DALE (1) war einer der ersten, der das Verhalten von hochmolekularen Eiweißlösungen nach Bestrahlung prüfte, um einer Erklärung des Strahlensyndroms näher zu kommen. Von besonderem Interesse sind freie SH-Gruppen enthaltende Enzyme, da diese eine Reihe bedeutender Reaktionsabläufe im Intermediärstoffwechsel der Kohlehydrate, Fette und Eiweiße katalysieren.

Die Beobachtung, daß einige dieser Enzyme in gereinigter Form in vitro äußerst strahlenempfindlich sind, veranlaßte BARRON (2) zu der Annahme, die SH-haltigen Enzyme der Zelle seien ein wesentlicher Angriffspunkt beim Zustandekommen des biologischen Strahlenschadens. Die von zahlreichen Autoren gemachte Feststellung, daß eine Vielzahl von SH-haltigen Substanzen (z.B. Cystin, Cystein und Glutathion) einen ausgezeichneten Strahlenschutz bewirken, schien BARRONS Auffassung vom Zustandekommen des Strahlensyndroms weiteren Auftrieb zu geben. Inzwischen sind eine Reihe von neueren Arbeiten erschienen, die zum Problem strahlenindu-

zierter Veränderungen, insbesondere auch der SH-haltigen Enzyme Stellung nehmen (7,9,11,12,16,17,18, 20,21,23,27).

Sowohl die Methoden als auch die untersuchten biologischen Systeme waren recht verschieden.

Um Einblicke in strahleninduzierte Veränderungen des Energiestoffwechsels zu bekommen, wurden im wesentlichen folgende Wege beschritten.

Einmal durch Messung der oxydativen Phosphorylierung selbst, und zum anderen durch Bestimmung der bei der oxydativen Phosphorylierung gebildeten energetisch hochwertigen Nukleosidphosphate.

Zur Frage der Beeinflussung der oxydativen Phosphorylierung liegen eine Reihe von Arbeiten vor, deren Ergebnisse sich teilweise widersprechen (23,24 - 20,26) Doch bei näherem Studium der Arbeiten, insbesondere der angewandten Methoden, ist zu erkennen, daß der Strahleninsult zu einer Hemmung der oxydativen Phosphorylierung führt. Es bleibt also die Bildung von energetisch hochwertigen organischen Phosphorsäuren aus. Durch Bestimmung des Gewebsgehaltes dieser Energiedonatoren sollte es möglich sein, weitere Einblicke zum Angriffspunkt der Strahlenschädigung zu bekommen.

Im Rahmen dieser Arbeit wird das Verhalten der Adeninnukleotide (ATP, ADP und AMP) in verschiedenen Organen von Ratten und Siebenschläfern innerhalb von 10 Tagen nach einer Ganzkörperbestrahlung mit einer Dosis von 800 r. untersucht.

MATERIAL UND METHODIK

1. Allgemeines

Es wurden männliche Wistarratten von einem Gewicht zwischen 120 und 160 g. als Versuchstiere verwendet. Die Tiere wurden bei normaler Kost gehalten. Bei den Siebenschläfern handelte es sich um frei in der Natur lebende Tiere, die uns für experimentelle Untersuchungen aus Süddeutschland zugeschickt wurden.

Mit Ausnahme der hibernisierten Siebenschläfer, die im Eiskasten bestrahlt wurden, erhielten die anderen Tiere die Ganzkörperbestrahlung mit der gleichen Dosis von 800 r. bei 20 mA, 200kV und 0,5 mm Kupferfilterung in einem Fokusabstand von 21 cm bei Zimmertemperatur. Die Dosisleistung betrug bei allen Bestrahlungen 457 r/Minute.

2. Die verwendeten Reagenzien und ihre Abkürzungen

ATP = Adenosintriphosphat, ADP = Adenosindiphosphat, AMP = Adenosinmonophosphat, DPN^+ = oxydiertes, DPNH = reduziertes Diphosphopyridinnukleotid, TRAP = Triäthanolamin-HCL-Puffer (pH = 7,4) BTS = Brenztraubensäure, MS = Milchsäure, MDH = Milchsäuredehydrogenase.G-6-PDH = Glukose-6-Phosphatdehydrogenase. PK = Pyruvatkinase, PBTS = Phosphoenolbrenztraubensäure, MK = Myokinase, 3-PGS = 3-Phosphoglycerat, 1,3-di-PGS = 1,3 di-Phosphoglycerat, PGK = Phosphoglyceratkinase, GAPDH = Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase, PGA = Glyceraldehydphosphat, TPD^+ = oxydiertes, TPNH = reduziertes Triphosphopyridinnukleotid,

Herstellung der einzelnen Lösungen:

TRAP = Triäthanolamin/HCL-Puffer $\frac{m}{5}$, pH 7,4

14,92 g Triäthanolamin "Merck" werden in ein kleines Becherglas eingewogen und mit etwa 300 ml quarzdestiliertem Wasser in ein großes Glas gespült und am pH-Meter mit 2n HCL auf pH 7,4 eingestellt. Danach in einem Meßkolben auf 500 ml mit quarzdestiliertem Wasser aufgefüllt.

Lösung von PBTS (Ag- Ba-Salz "Boehringer")

100 mg PBTS werden in ein Zentrifugenglas mit 60 mg KCL, 50 mg $(NH_4)_2So_4$ eingewogen, in 2ml $\frac{n}{2}$ HNO_3 aufgenommen und 10 Min. bei 7.500 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wird in einen Meßzylinder gegossen und mit Hilfe von pH-Papier mit 2n KOH auf pH 7,4 gebracht; dann auf 5 ml aufgefüllt. Es wurde in Kälte gearbeitet. (Eisbad und Kältezentrifuge).

3-PGS-Lösung $\frac{m}{5}$

800 mg 3-PGS "Boehringer" in ein Zentrifugenglas einwiegen, mit 2,0 ml n HCL, 2 ml Quarzwasser und 5,0 ml $\frac{m}{5}$ $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$ versetzen und zentrifugieren. Der Überstand wird mit 5n KOH auf pH 7,4 eingestellt und auf 10.0 ml aufgefüllt.

$MgSO_4$: 2,46 g $MgSo_4$ in 10,0 ml Quarzwasser auflösen.

Semicarbacid:

1,12 g in 10,0 ml Quarzwasser lösen

$MgSO_4$/KCL: 1,23 g $MgSO_4$ und 1,5 g KCL werden in einen Meßzylinder eingewogen und mit Quarzwasser auf 10,0 ml aufgefüllt

DPNH "Boehringer":
5o mg DPNH-Substanz werden in einen kleinen Meßzylinder eingewogen und mit quarzdestilliertem Wasser auf 2,o ml aufgefüllt. Danach in verschlossenem Glasfläschchen im Eisschrank aufbewahrt.

Trilon 10%:
10,0 g Titriplex "Merck" in etwa 50 ml Quarzwasser suspendieren, mit 2n KOH neutralisieren (mit pH-Papier auf etwa 7,4) und auffüllen auf 100,0 ml.

Stammlösung:

4,o ml 3-PGS
+ o,7 ml $MgSo_4$
+ o,6 ml Semicarbacid/HCL
+ o,5 ml Trilon (Äthylendiamintetraacetat)
+ o,2 ml 2n KOH
= 6,o ml Stammlösung (SL)

3. Analytisches Verfahren

a) Fixierung des Status der Metabolite im Gewebe:
Die Tiere werden durch einen Schlag auf den Kopf betäubt, auf eine Korkplatte aufgeheftet und die zu untersuchenden Organe immer in der gleichen Reihenfolge (Leber-Milz - linke Niere - Thymus) entnommen. Gleichzeitig wird aus den eröffneten Halsgefäßen Blut aufpipettiert. Die entnommenen Organe wurden sofort in eine Mischung von Methanol und festem CO_2 eingefroren. Die Zeit vom Tode der Tiere bis zum Einbringen der Organe in die Kälte

mischung betrug für die Leber 5-10 Sek., für die Milz 12-15 Sek., für die Niere 20-25 Sek., und für den Thymus etwa 40-60 Sek. Das aus den Halsgefäßen aufpipettierte Blut wurde durch Vetren ungerinnbar gemacht.

b) Extraktion der Metabolite
Von den eingefrorenen Organen wurde eine bestimmte Menge abgewogen und mit dem vierfachen Volumen 5%-iger Perchlorsäure im Ultraturrax homogenisiert. In jedem Fall wurde mit der vierfachen Menge Triäthanolamin-HCL-Puffer (TRAP) nachgespült. Vom Blut wurden 1,0 ml zur Aufarbeitung verwendet. Die 5%-ige Perchlorsäure, TRAP und die verwendeten Gefäße sind vorher stets eisgekühlt worden.
Das denaturierte Eiweiß wurde durch Zentrifugieren mit der Eiszentrifuge (7000 U/Min. 15 Min. lang) entfernt; der Überstand mit 2n KOH neutralisiert und der Niederschlag nach 20 Min. Verweilen im Eisbad abzentrifugiert.
Der so gewonnene Organ- bzw. Blutextrakt wurde zur Bestimmung des Metabolitgehaltes benutzt. HOHORST, KREUTZ und BÜCHER (3) gaben bei ähnlichen Versuchen den Tieren einen Ätherrausch von 3-5 Min., eröffneten die Bauchhöhle und entnahmen etwas Lebergewebe. Das Gewebe wurde zwischen mit flüssiger Luft vorgekühlte Metallblöcke gepreßt und die Metabolite auf diese Weise fixiert. Zur Extraktion wurde ebenfalls Perchlorsäure verwendet.

c) Bestimmung der Metabolite im Extrakt
Zur quantitativen Erfassung der Adeninnukleotide bedienten wir uns enzymatisch-optischer Bestimmungsmethoden. Die hier verwendete Methode wurde in dieser Form erstmals vom BÜCHERSCHEN Arbeitskreis beschrieben.
AMP und ADP wurden in einem Ansatz mit Hilfe von Myokinase, Pyruvatkinase und Lactat-Dehydrogenase ("Boehringer") bestimmt.

Folgende Reaktionen liegen dem Test zu Grunde:

$$AMP + ATP \xrightleftharpoons{MK} 2ADP$$

$$ADP + PBTS \xrightleftharpoons{PK} BTS + ATP$$

$$BTS + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{MDH} MS + DPN^+$$

Der Testansatz im Einzelnen:

+ 2,00 ml Extrakt
+ 0,05 ml Trilon
+ 0,05 ml $Mgso_4/KCL$
+ 0,03 ml DPNH Extinktion im Photometer ablesen
+ 0,03 ML MDH 1 : 10 verd.
+ 0,10 ml PBTS
+ 0,005ml PK 1:10 verd. Extinktionsabfall ablesen
+ 0,005ml MK 1:10 verd. Extinktionsabfall ablesen

Die Bestimmung der Nukleosidtriphosphate erfolgte im "Rücktest" mit Phosphoglycerathkinase und Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase. Hierbei laufen folgende Reaktionen ab.

$$ATP + 3\text{-PGS} \xrightleftharpoons{PGK} 1,3\ di\text{-PGS} + ADP$$

$$1,3\ di\text{-PGS} + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{GAPDH} PGA + DPN^+ + Ph$$

Der Testansatz:

1,00 ml Extrakt
+ 3,35 ml TRAP
+ 0,02 ml DPNH
+ 0,60 ml SL Ausgangsextinktion ablesen
+ 0,02 ml PGK
+ 0,01 ml TPD Extinktionsabfall ablesen

Die Messung erfolgte im Eppendorf-Photometer bei 366 mμ und d = 2cm. Beide Teste waren mit einem Blindgang von 0,003 bis 0,01 pro 10 Min. behaftet. Die wahre Extinktion wurde durch Extrapolation ermittelt.

Nach der Formel:

$$\text{Konzentration in } \mu\text{Mol/Küvetteninhalt} = \frac{E \cdot Vol}{3{,}3 \cdot d}$$

wurde die Konzentration der einzelnen Nukleosidphosphate errechnet. Der Gewebsgehalt wurde durch Abzug des Metabolitgehalts des Blutes korrigiert. Die Analysenwerte wurden auf das Frischgewicht der untersuchten Gewebe bezogen. Die Konzentration im Blut wurde auf 1,0 ml Frischblut umgerechnet. An dieser Stelle sei genauer auf den Begriff des Metabolitgehaltes eingegangen. BÜCHER und KLINGENBERG (4) haben vorgeschlagen, nur dann vom Metabolitgehalt eines Gewebes zu sprechen, wenn der ermittelte Analysenwert auf das Frischgewicht des untersuchten Gewebes bezogen wird.

Zur Feststellung des Blutgehaltes der Leber, der Milz und der Nieren wurde eine von HOLZER, SEDLMAYR und KIESE (5) angegebene Methode angewandt.

0,1 ml Blut aus den Halsgefäßen werden in 12,4 ml Periston, in dem 0,01 Vol. Saponin enthalten ist, pipettiert und 20 Min. zwecks vollständiger Hämolyse stehen gelassen. Nach anschließendem Zentrifugieren (10 Min. bei 4000 U/Min.) ist der Überstand testfertig. Bei der Aufarbeitung des Leber- und Nierengewebes zur Bestimmung des Blutgehaltes wird in gleicher Weise verfahren. Eine abgewogene Gewebsmenge wird mit dem 11,5 fachen Volumen Periston-Saponin versetzt, homogenisiert und zentrifugiert. Der so gewonnene Gewebsextrakt unterscheidet sich von dem des Blutes nur durch den Verdünnungsgrad. Der 125-fachen Blutverdünnung steht eine 12,5 fache Gewebsverdünnung gegenüber.

Nunmehr erfolgt die eigentliche spektrophotometrische Hämoglobinbestimmung durch Messung der Extinktionsdifferenz zwischen oxydiertem und reduziertem Hämoglobin im Eppendorf-Photometer bei 546 oder 578 mμ

Die Korrektur bezüglich des Blutgehaltes hat nur für den Metabolitgehalt der Milz wesentliche Bedeutung; ihr Blutgehalt liegt bei etwa 30 %. Für die Leber und die Nieren erübrigt sich diese Korrektur wegen des geringen Blutgehaltes von etwa 4%.
HOLZER und Mitarb. (5) geben bei der hier beschriebenen Methode für die Leber einen Blutgehalt von 4,1% an.
Zum Schluß des methodischen Teils sei noch auf eine weitere, von HOHORST, KREUTZ und BÜCHER (3) angegebene Möglichkeit der photometrisch-enzymatischen Erfassung der Nukleosidtriphosphate hingewiesen und eine kurze kritische Stellungnahme zu den beiden beschriebenen Methoden auf Grund von vergleichenden Untersuchungen von ATP im Leberextrakt durch HOHORST (3) wiedergegeben.
ATP-Bestimmung mit Hilfe der Hexokinase-Reaktion:

$$\text{ATP+Glukose} \xrightleftharpoons{\text{Hexokinase}} \text{Glukose-6 Phosphat + ADP}$$

$$\text{Glukose-6-Ph + TPN} \xrightleftharpoons{\text{G-6-PDH}} \text{6-Phosphoglukonat + TPNH + H}^{+}$$

HOHORST (3) konnte nämlich feststellen, daß die in dieser Arbeit verwendete Methode im Durchschnitt 10-15% kleinere Werte liefert, wie die Hexokinase-Zwischenferment-Methode. Beide Methoden sind auf Grund der Unspezifität sowohl der Phosphoglyceratkinase als auch der Hexokinase mit gewissen Mängeln behaftet, da andere Nukleosidphosphate in den Reaktionsablauf mit einbezogen werden.
In den Testen wurden alle Nukleosidphosphate erfaßt, nicht nur die Adenosinphosphate (3). Da die Adenosinphosphate den größten Anteil der Nukleosidphosphate bilden, wurde der Einfachheit halber an den Bezeichnungen ATP, ADP und AMP festgehalten.

ERGEBNISSE

Die mit 800 r. bestrahlten Ratten wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Bestrahlung getötet, um so einen Überblick über die Schwankungen der Metabolitkonzentrationen von ATP, ADP und AMP in einem Zeitraum von 10 Tagen nach der Bestrahlung zu erhalten. Die Nukleosidphosphate wurden im Blut, in der Leber, in der Milz, in der Niere und im Thymus bestimmt. Dem Kontrollwert liegen 10 Versuche zu Grunde; alle übrigen Werte stellen einen Mittelwert aus je 5 Versuchen dar. Bei den ebenfalls mit 800 r. bestrahlten Siebenschläfern wurden die Adeninnukleotide nur in der Leber und im Darm erfaßt. Während dem Kontrollwert wiederum 10 Einzelversuche zu Grunde liegen, wurden die übrigen Werte aus je 4 Versuchen errechnet. Es wird in dieser Arbeit kein Anspruch auf unbedingte Verbindlichkeit der absoluten Werte erhoben. Es kam vielmehr auf das Verhalten der Metabolitkonzentrationen in einem Zeitraum von 10 Tagen nach der Bestrahlung an. In einer Arbeit aus dem BÜCHERSCHEN Arbeitskreis (3) ist eine Übersicht der von den verschiedenen Autoren gefundenen ATP- und ADP-Werte in normaler Rattenleber nach 12 Stunden Futterentzug zusammengestellt. Die angegebenen Metabolitgehalte weichen in mehreren Fällen doch recht erheblich voneinander ab. Die Verschiedenartigkeit der zur Anwendung gekommenen Methoden ist offenbar eine der wesentlichsten Ursachen der unterschiedlichen Werte. Die eigenen Werte lassen sich am ehesten mit den Ergebnissen von HOLZER und HARTMANN wegen der Ähnlichkeit der angewandten Methode vergleichen. Der Leber-ATP-Gehalt wird von den obigen Autoren mit 2,1 bzw. 2,2 µMol pro Gramm Frischgewicht angegeben. Der eigene Wert liegt bei 1,7 µMol pro Gramm Frischgewicht. Die im Thymus mittels säulenchromatographischer Analyse ermittelte ATP-Konzentration von 0,91 µMol pro Gramm Frischgewicht (7) stimmt ebenfalls gut mit dem eigenen enzymatisch gewonnenen Wert von 0,69 µMol pro Gramm Frischge-

1. Unbestrahlte Kontrollen

Ein Vergleich der Metabolitkonzentrationen der verschiedenen Gewebe unbestrahlter Tiere untereinander ergibt beträchtliche Unterschiede von Organ zu Organ. Im Blut finden sich die niedrigsten, in der Leber die höchsten Werte. In Anbetracht der unterschiedlichen Aufgaben, die den einzelnen Organen zufallen, stellt dieses Ergebnis keine Überraschung dar. Es erscheint aber durchaus bemerkenswert, daß jene Organe mit einer hohen Stoffwechselintensität und Syntheseleistung, wie Thymus, Milz und vor allem die Leber einen wesentlich höheren ATP-Gehalt haben, als die weniger synthetisch tätigen Nieren oder das Blut.
Man sollte sich aber darüber im Klaren sein, daß die gemessenen Metabolitkonzentrationen die Resultante aus einer Vielzahl von enzymatischen Reaktionen und weiteren, für das interne Gewebsmilieu verantwortlichen Mechanismen darstellen. Hinzu kommen noch die bereits beschriebenen Mängel, mit denen enzymatische Bestimmungsmethoden auf Grund der Unspezifität der die Reaktionsabläufe katalysierenden Enzyme, im vorliegenden Fall der Phosphoglyceratkinase, behaftet sind.

2. Bestrahlte Ratten

Trotz aller morphologischen und funktionellen Unterschiedlichkeit der untersuchten Organe haben sich wesentliche Gesichtspunkte als gemeinsames Merkmal der vom Strahleninsult betroffenen Organe anhand der gemessenen Metabolitkonzentrationen ermitteln lassen.
In allen Organen, im Blut nur weniger deutlich, kommt es innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Strahleneinwirkung zu recht charakteristischen Verschiebungen zwischen den drei Nukleosidphosphatfraktionen (ATP, ADP und AMP).
ATP fällt während dieser Zeit in allen Organen signifikant ab. Dem gegenüber steht ein deutlicher AMP-

Anstieg. Die 14-Stundenwerte sind mit Ausnahme derjenigen in der Niere mit $p < 0{,}01$ statistisch gesichert.
Die ADP-Veränderungen sind weniger auffallend; ähneln aber dem Verhalten des AMP.
Im Anschluß an diese initialen Verschiebungen der Adeninnukleotide, die durch eine Abnahme der Tri- und eine Zunahme der Mono- und Di-Phosphate in den ersten Stunden nach der Bestrahlung gekennzeichnet sind, kommt es 24 Stunden nach der Bestrahlung zu einer weitgehenden Normalisierung der Werte. In den folgenden Tagen sinkt der ATP-Gehalt erneut und nunmehr noch intensiver ab, die ADP- und AMP-Kurven verlaufen auch hier zu denen des ATP spiegelbildlich.
10 Tage post radiationem erfolgt mit Ausnahme des hoch strahlensensiblen Thymus, der sich bereits etwa nach dem 3. Tag nach dem Strahleninsult zurückgebildet hat, eine Annäherung an die Ausgangswerte.
Neben den soeben beschriebenen gemeinsamen Veränderungen aller Organe nach der Bestrahlung, geht aus dem Kurvenverlauf der Metabolitkonzentrationen im Verlauf von 10 Tagen nach stattgehabtem Strahleninsult eindeutig hervor, daß jedes Organ in der ihm eigenen Art und Weise unterschiedlich auf einen Strahleninsult reagiert.

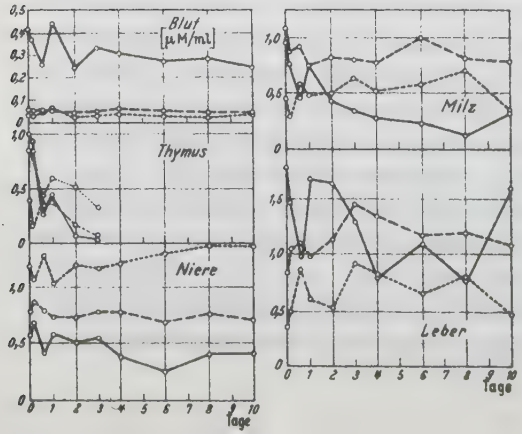

Abb. 1

Die Adeninnukleotide ATP, ADP und AMP innerhalb von 10 Tagen nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 800 r.

Die Werte nach 3, 24, 48, 72 und 96 Stunden nach der Bestrahlung sind einer Dissertation von BAERING entnommen.
Trotz seiner geringen Metabolitkonzentration sind auch im Blut, genauer ausgedrückt, in den Erythrocyten, deutlich die zwei Phasen der strahleninduzierten Verschiebung der Adeninnukleotidkonzentrationen sichtbar. Inwieweit diese Blutmetabolitgehaltsveränderungen durch einen direkten Strahlenschaden auf die Erythrocyten oder durch eine strahleninduzierte Hemmung der Erythropoese beeinflußt sein mögen, soll im Verlauf der Diskussion besprochen werden. Obgleich die Nukleosidverschiebungen in der Niere bei weitem nicht so deutlich wie etwa in der Leber sind, lassen doch gerade diese Ergebnisse einige bemerkenswerte Schlußfolgerungen zu.
Wie in allen Organen, wurde auch in der Niere in den ersten 14 Stunden nach der Bestrahlung eine Abnahme des ATP-Gehaltes sowie eine Zunahme der AMP-Konzentration bei nahezu konstant bleibender ADP-Fraktion registriert.
Der gleichbleibende ADP-Gehalt in der Niere spricht dafür, daß die stationären Adeninnukleotidkonzentrationen in diesem Organ wahrscheinlich durch die Myokinase-Reaktion ($2\ ADP \underset{}{\overset{MK}{\rightleftharpoons}} ATP + AMP$)

eingestellt werden. Für diese Annahme spricht die ebenfalls nahezu konstant bleibende Gleichgewichtskonstante " K " = $\frac{(ATP) \cdot (AMP)}{(ADP)^2}$

Dieser Wert weicht nur wenig von der durch COLOWICK und KALCKAR (8) ermittelten Gleichgewichtskonstante (K = 0,44) für die Muskel-Myokinase katalysierte Reaktion ab.
Eine weitere bemerkenswerte Feststellung erlaur das Verhalten von " G ", der Summe aller drei Nukleotidfraktionen. Es fällt auf, daß sich der Gesamtnukleotidgehalt nach der Bestrahlung nur unwesentlich geändert hat. Die geringe Erniedrigung der Summe aller

Nukleotide um den 6. Tag nach der Bestrahlung trifft offenbar nicht zufällig mit dem zu diesem Zeitpunkt bestehenden ATP-Mangel (64,7% des Ausgangswertes !) zusammen. Sobald der ATP-Gehalt wieder zunimmt, vom 8. bis 10. Tag nach der Bestrahlung, kommt es zu einer Normalisierung des Gesamtnukleotidgehaltes. Man darf also annehmen, daß die Nukleotidsynthese bei einem Abfall der Adenosintriphosphorsäure auf die Hälfte des Normalgehaltes in der Niere merklich gestört wird.
Das Maximum der Strahlenschädigung liegt in der Niere zwischen dem 5. und 7. Tag nach der Bestrahlung. Bei den Tieren die bis zum 10. Tag überleben, kommt es zu einer annähernden Normalisierung der Metabolitkonzentrationen.

Leber

Besonders eindrucksvolle und übersichtliche Verhältnisse liegen in der Leber vor. Im Gegensatz zu der Niere kommt es in der Leber bereits 3 Stunden nach der Bestrahlung zu einem merklichen Absinken der ATP-Konzentration mit einem statistisch gesichertem ($p < 0{,}01$) Tiefstwert nach 14 Stunden. Einem kurzen Anstieg um den 1. und 2. Tag folgt ein erneuter Abfall auf Werte von etwa 50% am 4. und 8. Tag nach der Bestrahlung, verglichen mit denen des Kontrollwertes. Gegensinnig dazu verlaufen die Kurven für ADP und AMP, wobei die Exaktheit dieses spiegelbildlichen Verhaltens bemerkenswert ist. Die ADP-Kurve läuft zu der des AMP streng parallel, nur sind die ADP-Schwankungen innerhalb der ersten 24 Stunden weniger ausgiebig sind. 10 Tage nach der Bestrahlung erreichen alle drei Fraktionen ihr Ausgangsniveau.
Die Tendenz zur Normalisierung der Metabolitkonzentrationen 10 Tage nach dem erlittenen Strahleninsult im Falle des Überlebens der Tiere, ist in der Leber besonders deutlich, und offenbar Ausdruck ihres beträchtlichen Erholungsvermögens. Aus Tab. 1 wird weiterhin ersichtlich, daß " K " auch in der Leber der Gleichge-

wichtskonstanten der Myokinase-Reaktion recht nahe kommt, sieht man von kleineren Schwankungen ab. Man darf somit annehmen, daß die Myokinase auch hier wesentlich an der Einstellung der Adeninnukleotidkonzentrationen beteiligt ist.
Die Erhöhung des Gesamtnukleotidgehaltes am 3. Tag nach der Bestrahlung ist sicher auf den beträchtlichen ADP-Anstieg zurückzuführen. Mit der Abnahme der ATP-Konzentration in den folgenden Tagen, geht auch der erhöhte Gesamtnukleotidgehalt wieder zurück. Während es in der Niere zwischen dem 4. und 8. Tag nach der Bestrahlung auf Grund eines erheblichen ATP-Abfalles zu einer Abnahme des Gesamtnukleotidgehaltes kommt, bleibt " G " in der Leber trotz stark erniedrigtem ATP-Spiegel in normaler Höhe. Für eine nennenswerte Störung der Nukleotidsynthese findet sich in der Leber trotz zeitweilig stark erniedrigtem ATP-Spiegel kein Anhalt.

Milz

Die vermehrte Strahlenempfindlichkeit der Milz verglichen mit den bereits besprochenen Organen Niere und Leber, wurde auch in Bezug auf die Metabolitgehaltsverschiebungen der Adeninnukleotide bestätigt.

In ganz besonderem Maße ist die ATP-Fraktion vom Strahleninsult betroffen. Die initiale Phase unterscheidet sich kaum von den Veränderungen, wie sie in der Leber und in der Niere gefunden wurden.
Innerhalb der ersten Stunden nach der Bestrahlung kommt es zu einem erheblichen ATP-Abfall mit einem statistisch gesicherten ($p < 0{,}001$) 14-Stundenwert. Nun folgt einem geringen, gegenüber dem 14-Stundenwert nicht zu sichernden Anstieg nach 24 Stunden ein recht starkes Absinken des ATP-Gewebsspiegels. Bereits nach 48 Stunden ist der ATP-Gehalt um mehr als die Hälfte vermindert, um am 8. Tag mit nur noch 10 bis 15% des Normalwertes sein Minimum zu erreichen. Nach dem 8. Tag

ist auch die Tendenz zur Normalisierung des ATP-Gehalts angedeutet, obgleich die ATP-Konzentration jedoch nur auf etwa ein Drittel des Normalwertes am 10. Tag ansteigt. Die AMP-Fraktion ist mit Ausnahme des 3-Stundenwertes während der 10-tägigen Beobachtungszeit erhöht und verhält sich auch hier gegensinnig zu den ATP-Schwankungen.
Die ADP-Konzentration sinkt bereits nach 3 Stunden und hält sich im weiteren Verlauf auf diesem Niveau. Diese ADP-Schwankungen ließen sich nicht statistisch absichern.
Auf Grund des hochgradig verminderten ATP-Gehaltes sollte man mit einem wesentlich stärkeren Abfall der Summe aller drei Fraktionen rechnen. Der Gesamtnukleotidgehalt ist aber bei weitem nicht so stark erniedrigt, wie man es bei einem ATP-Spiegel von nur etwa 10 bis 15% des Normalwertes erwartet hat. Es liegen hier also wesentlich andere Verhältnisse wie in der Niere vor. Ein ATP-Gehalt von 10 bis 15% des Normalwertes ist in der Milz offenbar noch in der Lage, eine ausreichende Phosphorylierung der Nukleotide zu gewährleisten. Daß die Myokinase-Reaktion in der strahlengeschädigten Milz nicht mehr in solchem Maße wie etwa in der Niere an der Aufrechterhaltung der Metabolitkonzentrationen beteiligt ist, geht aus der zwischen 0,13 und 0,31 schwankenden Gleichgewichtskonstanten " K " hervor. Die Abnahme von " K " beruht in erster Linie auf der beträchtlichen ATP-Verminderung bei nahezu gleichbleibendem ADP-Gehalt. Insbesondere die Zunahme der Monophosphate sowie die geringe Verminderung des Gesamtnukleotidgehaltes widersprechen der Vorstellung, daß das ATP-Defizit alleine durch den Verlust an Zellmaterial hervorgerufen wird. Wäre nämlich ein allgemeiner Gewebsuntergang die alleinige Ursache des ATP-Defizits, müßten auch die ADP- und AMP-Fraktion und somit auch der Gesamtnukleotidgehalt wesentlich stärker herabgesetzt sein. In diesem Fall bleibt also die Bildung der energetisch

hochwertigen Adenosindi-, vor allem aber die der Adenosintriphosphatverbindungen aus.
Normalerweise entstehen aus je einem Molekül ADP und Orthophosphat ein Molekül ATP. Die für diese Reaktion notwendige Energie wird im Rahmen der Atmungskette durch Übertragung der aus Nährstoffen und Zwischenprodukten stammende Wasserstoffatome auf Sauerstoff unter Bildung von Wasser, gewonnen. Die bei der Verbrennung von zwei Atomen Wasserstoff entstandene Energie ist ausreichend für die Bildung von drei Molekülen ATP aus je drei Molekülen ADP und Phosphat. Dieser Vorgang, die Ausnutzung der im Atmungskettensystem entstehenden Energie zur Bildung von organischen Phosphorsäureverbindungen, wird als oxydative Phosphorylierung bezeichnet. Die Befunde in der Milz sprechen dafür, daß dieser Mechanismus, die oxydative Phosphorlierung nach der Bestrahlung im Sinne einer Hemmung verändert ist.

Thymus

Die Untersuchungen am Thymus erbrachten nur innerhal der ersten 24 Stunden nach der Bestrahlung exakte und sicher verwertbare Werte. Zu späteren Zeitpunkten war in den meisten Fällen kaum noch Thymusgewebe nachweisbar. Jene wenigen und unsicheren Befunde, die nach 24 Stunden erhoben wurden, lassen jedoch einen extrem niedrigen ATP- und ADP-Gehalt erkennen.
Sieht man von einem AMP-Abfall in den ersten 3 Stunden nach der Bestrahlung ab,so ist diese Fraktion zwischen 14 und 72 Stunden nach der Bestrahlung erhöht, oder aber normal hoch.
Der extrem starke ATP-Abfall ist offenbar auch mit verantwortlich für den gleichfalls erheblich abgesunkenen ADP-Spiegel. Die Myokinase-Reaktion ist unter diesen Umständen nicht mehr in der Lage, die ADP-Gewebskonzentration aufrecht zu erhalten.
Bei solch einem starken ATP- und ADP-Defizit muß es

zwangsläufig zu einer Verminderung des Gesamtnukleotidgehaltes kommen.
Zur Deutung der im Thymus nach der Bestrahlung vorgefundenen Adeninnukleotidveränderungen kommen folgende Möglichkeiten in Betracht:

Erstens: Der sehr nahe liegenden Schlußfolgerung, der extreme ATP-ADP-Abfall sei durch den zweifellos stattgefundenen allgemeinen Gewebsuntergang bedingt, werden durch das Verhalten der Monophosphatfraktion erhebliche Vorbehalte entgegen gestellt. Die gleichbleibende bzw. erhöhte Monophosphatfraktion schließt den durch die Bestrahlung hervorgerufenen Zelluntergang als alleinige Ursache für das Zustandekommen des ATP-ADP-Defizits aus.

Zweitens: Es liegen im Thymus mit Sicherheit ähnliche Veränderungen vor, wie sie bereits für die Milz beschrieben worden sind. Die Bildung von energetisch hochwertigen Phosphorsäureverbindungen bleibt aus. Man muß also eine Hemmung der oxydativen Phosphorylierung annehmen.

Drittens: Als weitere Ursache für den niedrigen ATP-ADP-Spiegel kommt eine Störung der Nukleotidsynthese selbst in Betracht. In der Tat, es ließ sich eine Störung der Nukleotidsynthese nach Ganzkörperbestrahlung nachweisen. Von ganz besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang eine neuere Arbeit von BETTENDORF, KÜNKEL, KIRSTEN und MAASS (7).
Diese Autoren konnten zeigen, daß es nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 800 r. im Rattenthymus außer zu einer Erniedrigung der Konzentration auch zu einer verminderten Phosphorylierungsrate einer Reihe von Nukleotiden (Thymidin, Cytidin, Guanosin und Adenin) kommt. Wegen der Wichtigkeit dieser Untersuchungen für die Deutung der eigenen Ergebnisse muß diese Arbeit ausführlicher erwähnt werden. 30 Minuten nach der Ganz-

körperbestrahlung waren ADP auf 70%, Guanosintriphosphat (GTP) auf 25%, Thymidintriphosphat (TTP) auf 55% und Diphosphopyridinnukleotid (DPN) auf 50% erniedrigt. 7 Stunden nach der Bestrahlung waren die Werte noch tiefer: ADP 24%, GPT 25%, TTP 25% und DPN 30%.
Die AMP-Fraktion war nach 7 Stunden auf 60% des Normalwertes abgefallen. ATP auf 34%.
Die von BETTENDORF und Mitarb. angegebenen Werte stimmen recht gut mit den eigenen für ATP, ADP und AMP, ermittelten Konzentrationen überein. Durch Bestimmung der P^{32}-Aktivität der freien Nukleotide im Thymus nach 800 r. Ganzkörperbestrahlung konnten die oben genannten Autoren eine deutlich verminderte Phosphorylierungsrate in zahlreichen Nukleosiden (Thymidin und Adenin) nachweisen.
Bereits 30 Minuten nach der Bestrahlung ist die P^{32}-Aktivität im TTP auf 58% und im AMP auf 24% herabgesunken.
7 Stunden nach der Bestrahlung liegen die Werte noch tiefer: TTP 30%, AMP 13%. Im ATP ist zu diesem Zeitpunkt der Phosphatumsatz auf 25% des Normalwertes vermindert. Für ADP ließen sich keine signifikanten P^{32}-Aktivitätsänderungen nachweisen.
Es ist somit erwiesen, daß nicht nur die stationären Konzentrationen verändert, sondern auch der Umsatz, möglicherweise auch die Synthese einer Reihe von Nukleosiden nach Ganzkörperbestrahlung mit 800 r. im Rattenthymus gehemmt werden.

	unbe-strahlt	Stunden nach der Bestrahlung							
		14	p	144	p	192	p	240	p
Leber ATP	1,677	0,984	0,01	1,097	0,02	0,789	0,001	1,579	
ADP	1,077	1,097	-	1,160	-	1,196	-	1,090	-
AMP	0,359	0,864	0,01	0,642	0,001	0,789	0,05	0,456	-
K	0,52	0,71		0,52		0,44		0,60	
G	3,11	2,93		2,80		2,76		3,13	
Blut ATP	0,349	0,260	0,02	0,273	-	0,287	-	0,252	
ADP	0,0542	0,0552	-	0,0542	-	0,0410	-	0,0319	-
AMP	0,0319	0,0406	-	0,0249	-	0,0239	-	0,0373	-
K	3,79	3,53		2,32		4,06		9,40	
G	0,442	0,356		0,352		0,352		0,328	
NiereATP	0,382	0,417	0,1	0,236	0,1	0,359	0,1	0,415	0,1
ADP	0,875	0,791	-	0,691	0,01	0,763	0,1	0,710	0,01
AMP	1,044	1,158	-	1,305	0,05	1,387	0,01	1,367	0,01
K	0,65	0,94		0,65		0,85		1,12	
G	2,30	2,49		2,232		2,509		2,492	
Milz ATP	1,132	0,445	0,001	0,235	0,001	0,126	0,001	0,329	0,001
ADP	1,274	0,927	-	1,045		0,815	0,001	0,794	0,02
AMP	0,316	0,591	0,05	0,584	0,1	0,715	0,05	0,359	-
K	0,21	0,31		0,13		0,15		0,20	
G	2,722	1,963		1,864		1,651		1,482	
ThymusATP	0,685	0,259	0,001						
ADP	0,983	0,337	0,001						
AMP	0,384	0,435	0,1						
K	0,27	0,99							
G	2,052	1,031							

$$K = \frac{(ATP)\quad(AMP)}{(ADP)^2}$$

$$G = (ATP, ADP + AMP)$$

Tab. 1 Metabolitkonzentrationen an ATP, ADP und AMP in verschiedenen Organen der Ratte nach 800 r. Ganzkörperbestrahlung.

DISKUSSION

Nachdem das Verhalten der Adeninnukleotide 10 Tage nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 800 r. in den verschiedenen Organen der Ratte an Hand von enzymatisch-photometrisch bestimmten Metabolitkonzentrationen näher beschrieben wurde, soll eine Beantwortung der eingangs gestellten Frage nach dem Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Gehalt an Adeninnukleotiden bzw. auf die zellulären Phosphorylierungsprozesse versucht werden. Eine kritische Stellungnahme zu diesem Problem macht eine Auseinandersetzung mit der zu diesem Fragenkomplex vorliegenden Literatur notwendig.

BARRON und Mitarb. (2) weckten das strahlenbiologische Interesse am ATP-ATP-ase-System durch die Feststellung, daß bereits Strahlendosen von 10 r bis 1000 r ausreichen, um die ATP-ase des Muskels um 10 bis 95% zu inaktivieren. Dabei zeigte sich, daß gealtertes Ferment noch wesentlich strahlensensibler war. Die Beobachtung, daß nachträglicher Zusatz von reduzierenden Substanzen zu einer gewissen Reakttivierung der SH-Enzyme führte, veranlaßte zu der Annahme, die strahleninduzierte Inhibierung sei auf Grund einer Oxydation der SH-Gruppen erfolgt. Die Tatsache, daß eine Reihe von Sulfhydrylkörpern (Cystin, Cystein und vor allem Glutathion) einen bemerkenswert guten Strahlenschutz auszuüben vermögen, schien nicht nur BARRONS Auffassung, daß die SH-haltigen Enzyme einen wesentlichen Angriffspunkt bei der biologischen Strahlenwirkung darstellen, recht zu geben, sondern wurde gleichzeitig als Bestätigung der Annahme angesehen, die strahleninduzierte Inhibierung der SH-Enzyme würde durch eine SH-Gruppenblockade verursacht.

FRITZ-NIGGLI (9) konnte zeigen, daß durch die minimale Strahlendosis von 0,1 r. eine enzymatische Strahlenschädigung in isolierten Lebermitochondrien nachweisbar ist. Es muß jedoch erwähnt werden, daß die Hemmung der Citrat- bzw. Pyruvat-Oxydation an isolierte, bestrahlte Mitochondrien unter besonderen Versuchsbedingungen fest-

gestellt wurden. Dagegen konnte eine strahleninduzierte Enzyminaktivierung in vivo oder in Organhomogenaten bisher nicht nachgewiesen werden.
MAASS, HÖHNE und KÜNKEL (10) fanden für 10, vorwiegend dem Kohlehydratstoffwechsel angehörende Enzyme, von denen einige mit Sicherheit SH-Gruppen tragen, keine signifikanten Aktivitätsänderungen. Die Rattenleberextrakte wurden nach der Bestrahlung mit 4000r. und 20.000 r. geprüft.
HORNYKIEWITSCH und STENDER (11) konnten zeigen, daß frische, aus der Leber und dem Muskel hergestellte hochkonzentrierte Fermentlösungen, die große Mengen von Eiweiß und anderen organischen Substanzen enthielten, nahezu strahlenunempfindlich sind, oder erst auf so hohe Strahlendosen reagieren, die bereits jenseits des strahlenbiologischen Interesses liegen. Mit Zunahme der Verdünnung nahm die strahleninduzierte ATP-ase-Inaktivierung bis zu einer bestimmten Grenzkonzentration zu.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß sich alle Fermente ähnlich gegenüber Röntgenstrahlen verhalten. Unter besonderen unphysiologischen Bedingungen beobachtete Aktivitätsverluste sind offenbar durch Versuchsanordnung und Aufarbeitung des Materials bedingt, aber keine spezifische Eigenschaft des Ferments.
FORSSBERG und KLEIN (12) konnten dagegen eindeutig beweisen, daß die ATP-ase-Aktivität in Ehrlich-Ascites-Tumorzellen der Maus nach der Bestrahlung mit 1250 r. in den ersten 22 Stunden post radiationem erhöht ist. Die ADP/ATP-Fraktion, vorwiegend bestehend aus ATP, steigt 35 Minuten nach der Bestrahlung um etwa 25% an, bleibt bis 100 Min. so hoch, um dann nach 135 Minuten unter den Ausgangswert abzufallen. Dieser initiale ATP-Anstieg wurde folgendermaßen erklärt: Die Synthese von ADP/ATP soll kurz nach der Bestrahlung in normaler Weise fortschreiten, während der Abbau gehemmt wird. Es wurde angenommen, daß die Bestrahlung den Verbrauch von ATP als einen Früheffekt verhindert, dadurch der initiale Anstieg der intrazellulären Konzentration. Durch die

Hemmung des Verbrauchs wird die Zelle ihres energieliefernden Systems beraubt, dadurch kommt es nachfolgend zu einer Hemmung der synthetischen Reaktionen.
VAN BEKKUM (13) konnte ebenfalls einen Anstieg der ATP-ase-Aktivität 24 Stunden nach der Bestrahlung feststellen. Die ATP-Konzentration in der Milz war 4 Stunden nach dem Strahleninsult unverändert.
Für die Veränderungen der ATP-Fraktion nach der Strahleneinwirkung ist eine einheitliche Stellungnahme insofern möglich, als von den meisten Autoren ein mehr oder wenig deutlicher ATP-Abfall beobachtet wurde. Während ORD und STOCKEN (14) nach 1 Stunde keine Änderung im Thymus bestrahlter Ratten fanden, konnte LUTWAK-MAN (15) im Knochenmark nach 3 Stunden einen beachtlichen ATP-Abfall feststellen.
DENSON und Mitarb. (16) konnten nachweisen, daß es in den ersten 4 Tagen nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 1000 r. in der Rattenleber zu einer Erniedrigung des ATP-Spiegels kommt, wobei das Minimum um den 3. Tag auftritt.
UYEKI (17) bestimmte den Adeninnukleotidgehalt in der Milz von Mäusen nach letalen und subletalen Röntgendosen. 7 Tage nach der Bestrahlung mit 400 r. war der ATP-Spiegel um 50% gesunken.
MAURER und PFEFFER (18) beobachteten im Vollblut bestrahlter Kaninchen ebenfalls einen erniedrigten ATP-Gehalt, der zwischen dem 3. und 5. Tag nach der Bestrahlung am deutlichsten in Erscheinung trat.
MAASS und RATHGEN (19) fanden in mit 25 kr. bestrahlten YOSHIDA-Ascites-Tumorzellen einen gering erhöhten ADP-Gehalt bei stark verminderter ATP-Konzentration als Folge einer Hemmung der Glykolyse.

Neben der quantitativen Bestimmung der Metabolitkonzentrationen gestattet vor allem die Messung der oxydativen Phosphorylierung wertvolle Aussagen über eine Beteiligung der Adeninnukleotide beim Zustandekommen des Strahlensyndroms.

POTTER und BETHEL (20) waren mit ihren 1952 veröffentlichten Untersuchungen wegweisend. Diese beiden Autoren konnten nämlich als erste zeigen, daß es nach einer Ganzkörperbestrahlung zu einer Hemmung der oxydativen Phosphorylierung kommt.
ASHWELL und HICKMANN (21) konnten diese Befunde bestätigen, indem sie zwischen 4 Stunden und 11 Tagen nach Bestrahlung mit 640 r. in Mäusemilzhomogenaten eine deutliche Abnahme der Atmungskettenphosphorylierung fanden.
Nach VAN BEKKUM (23)nimmt die oxydative Phosphorylierung in isolierten Mitochondrien irgend eines von Strahlen getroffenen Gewebes schon kurze Zeit nach der Ganzkörperbestrahlung ab. Diese strahleninduzierte Veränderung läßt sich sowohl in Milzmitochondrien von Mäusen und Ratten als auch in Thymusmitochondrien von Ratten zeigen.
VAN BEKKUM (22) hat weiterhin den Einbau vom radioaktivem P^{32} in ADP und ATP in Milz und Thymus kurze Zeit nach intravenöser Gabe von radioaktivem anorganischen Phosphat gemessen. Bereits 44 Stunden nach der Ganzkörperbestrahlung mit einer Dosis von 700 r. war die spezifische Aktivität von ADP/ATP in der Milz signifikant vermindert. Ähnlich waren die Ergebnisse im Thymus.

NITZ-LITZOW und BÜHRER (24) fanden ebenfalls eine in vivo-Entkopplung in Lebermitochondrien nach Totalbestrahlung.
Eine 50%ige Hemmung der oxydativen Phosphorylierung in isolierten Rattenmitochondrien nach einer Bestrahlung mit 20-30 kr. registrierten YOST und ROBSON (25).

Nachdem es gelungen war, einwandfrei eine Hemmung der oxydativen Phosphorylierung in Organen von ganzbestrahlten Tieren nachzuweisen, konnten POTTER und BETHEL (20) sowie ORD und STOCKEN (26) eine solche Hemmung der Atmungskettenphosphorylierung an in vitro bestrahlten Mitochondrien nicht bestätigen. FRITZ-NIGGLI und BÜHRER (27) bestimmten die oxydative Phosphorylierung in iso-

lierten Lebermitochondrien der Ratte. Als Maß der oxydativen Phosphorylierung wurde das Verhältnis der µMol verschwundenen anorganischen Phosphats zum verbrauchten gA Sauerstoff ermittelt. Es zeigte sich, daß durch die Bestrahlung von isolierten Mitochondrien in isotonischer Mannitlösung die Atmungskettenphosphorylierung gehemmt wird. Der Entkopplungseffekt war von der angewandten Röntgendosis abhängig. Neben der Dosisabhängigkeit ließ sich eine strenge Abhängigkeit der Strahlenwirkung von der Konzentration der bestrahlten Suspension beweisen.

Die strahleninduzierte Hemmung der oxydativen Phosphorylierung ist in einer verdünnten Mitochondrienlösung wesentlich größer als im Homogenat. Die Abhängigkeit von der Strahlendosis und von der Konzentration der Mitochondrien erklärt die anders lautenden Ergebnisse von POTTER und BETHEL (20) sowie von ORD und STOCKEN (26), die offenbar auf Grund ihrer Versuchsanordnung keine Entkopplung in isolierten Mitochondrien nachweisen konnten. Eine Beeinträchtigung der Gewebsatmung selbst ist erst nach sehr hohen Dosen (100.000r.) beobachtet worden. (28, 29)

Eine einheitliche Stellungnahme zum Problem strahleninduzierter Veränderungen der Adeninnukleotidkonzentrationen im Zusammenhang mit der Entstehung des Strahlensyndroms ist zur Zeit noch nicht möglich.

Trotz prinzipieller Ähnlichkeiten, bestehen von Organ zu Organ doch recht erhebliche Unterschiede, wie aus Abb. 1 deutlich hervorgeht.

Bereits MAURER (8) hat auf einen Gesichtspunkt hingewiesen, der hier einmal näher diskutiert werden soll. Es ist doch immerhin bemerkenswert, daß die Hauptveränderungen der Adeninnukleotidkonzentrationen, sieht man von der initialen Phase ab, zwischen dem 3. und 5. Tag nach der Bestrahlung auftreten. Dieser Zeitpunkt fällt sicher nicht rein zufällig mit zahlreichen anderen Störungen im endokrinen System, im Minneral- und Eiweißhaushalt zusammen. Ähnliche Veränderungen werden auch

nach schweren Traumen und Verbrennungen und im Schock beobachtet. (30) Man spricht auch von einer anabolischen Phase.
GROS und MANDEL (31) fanden bei Ratten mit eiweißfreier Kost nach 440 r. eine durchschnittliche Steigerung des endogenen Stickstoffverlustes von 36%.
STUHLFAUTH und STRUPPLER (32) beobachteten einen erheblichen Stickstoff- und Phosphatverlust und eine Retention von Natrium und Chlorid, sowie stark überschießende Kaliumabgabe nach größeren operativen Eingriffen.
HÖHNE, JASTER und KÜNKEL (33) sicherten in umfangreichen Tierversuchen strahleninduzierte Verschiebungen im Serum-Eiweißspektrum. Es wurde bei allen Tieren eine mit der Zeit fortschreitende, signifikante Abnahme des Anteils der Albumine und der γ Globuline sowie eine Zunahme der α und β Globulinfraktion festgestellt. Das Maximum der Verschiebungen lag zwischen dem 2. und 9. Tag nach der Bestrahlung. Es wird jetzt nur schwierig, die Ursache von der Wirkung zu unterscheiden. Zur Synthese hochmolekularer Stoffe, wie der Eiweißkörper, sind energiereiche Substrate, vor allem ATP erforderlich. Ihr verstärktes Angebot erhöht den "Synthesedruck" für die Eiweißbildung. Von besonderer Bedeutung ist auch der Funktionszustand der Nebennierenrinde: Bereits 4 Stunden nach einer Röntgenbestrahlung kommt es in der NNR zu einer dosisabhängigen Zellentfaltung, die für eine akute Belastung durch die Röntgenstrahlen spricht. (34) 10 Tage nach einer Strahlenbelastung mit 700 r. zeigen sich in der NNR bei Ratten schwerste Veränderungen in der Zona fasciculata in Form von hydropischer Quellung, Zytoplasmavakuolisierung, Zellquellung und Cytolyse. (35)
WILHELM (36) berichtete über die Corticoid- und Ketosteroidausscheidung in den ersten 4 Tagen nach der Bestrahlung im Urin der weißen Maus:
Es zeigte sich eine geringe Erhöhung der Corticoidausscheidung in den ersten 4 Tagen. Wesentlich deutlicher war die 17-Ketosteroidausscheidung vom 2. Tag nach der Bestrahlung.

MAURER und MENSE (37) beobachteten ebenfalls eine erhöhte 17-Ketosteroidausscheidung im Urin von bestrahlten Kaninchen.
Auf Grund der Überlegung, daß ATP aus ADP bzw. AMP synthetisiert wird, wobei diese reversiblen Reaktionen aber nur in Anwesenheit von Mineralien, vor allem aber von Magnesium und Mangan ablaufen können, kontrollierte MAURER (38) den Mg-Spiegel nach Röntgenbestrahlung. Es ergaben sich jedoch keinerlei charakteristische Abweichungen des Serummagnesiumspiegels. Möglicherweise lassen sich aber Veränderungen nachweisen, wenn man neben dem Serummagnesium auch die Konzentration dieses Metalls in den Erythrocyten und im Gesamtblut bestimmt, zumal die ATP im Blut an die Erythrocyten gebunden ist.

BETZ (39) registrierte in den ersten Stunden nach der Bestrahlung eine kurze Phase der Überfunktion der NNR, der nach einigen Tagen eine zweite Phase einer vermehrten NNR-Aktivität folgt.
Zur Deutung noch ungeklärter Zusammenhänge soll nun nicht die Stresstheorie benutzt werden, wie es in den letzten Jahren nur allzu gern geschah. Eine Reihe von experimentellen Untersuchungen berechtigt jedoch zu der Annahme, daß Hypophyse und Nebennierenrinde maßgeblich am Zustandekommen der Adeninnukleotidschwankungen in ganzbestrahlten Ratten beteiligt sind.

Das Verhalten der Adeninnukleotide in der Leber und im Darm von Siebenschläfern:

Ein weiterer Beitrag zur Klärung der Frage nach den Auswirkungen einer Ganzkörperbestrahlung auf den Gewebsgehalt der Adeninnukleotide sollte durch Bestimmung der Metabolitgehalte unter verschiedenen Stoffwechselintensitäten möglich sein. Bei den Siebenschläfern bot sich diese Gelegenheit, den Gewebsgehalt der Adeninnukleotide unter wechselnden Stoffwechselbedingungen zu ermitteln. Die Metabolitgehaltsbestimmungen wurden in der Leber und im Darm von Siebenschläfern vorgenommen. Die

Ergebnisse wurden unter den gleichen methodischen Bedingungen wie bei den Ratten gewonnen.

Ergebnisse:

Neben den Kontrollwerten für wache und schlafende Tiere wurden die Metabolitgehalte 4 Tage nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 800 r. bestimmt. Es wurde der 4. Tag nach dem Strahleninsult für die ATP-ADP- und AMP-Bestimmungen gewählt, da die Untersuchungen an den Rattenorganen gezeigt hatten, daß zu diesem Zeitpunkt Verschiebungen im Nukleotidhaushalt besonders deutlich sind. Die Kontrollwerte stellen einen Mittelwert aus je 10 Versuchen dar; allen übrigen Werten liegen 4 Versuche zu Grunde.
Tab. 2 enthält eine Zusammenstellung aller gefundenen Werte.

Organ		Wachzustand		Schlafzustand		4 Tage nach dem Wecken	
		unbestrahlt	bestrahlt	unbestrahlt	bestrahlt	unbestrahlt	bestrahlt
Leber	ATP	0,892	0,549	2,144	2,236	1,903	0,544
	ADP	1,189	0,860	0,330	0,792	1,235	1,070
	AMP	0,691	0,812	0,268	0,266	0,707	1,085
	K	0,45	0,61	0,66	0,97	0,47	0,52
	G	2,772	2,221	3,342	3,354	2,945	2,299
Darm	ATP	1,008	0,964	1,253	1,487	1,101	0,736
	ADP	0,738	0,833	0,677	0,916	0,959	0,778
	AMP	0,672	0,547	0,422	0,473	0,599	0,652
	K	1,32	0,95	1,13	0,84	0,64	0,79
	G	2,478	2,344	2,352	2,678	2,689	2,166

Tab. 2 Siebenschläferergebnisse

Die Gegenüberstellung der Kontrollwerte für die wachen und schlafenden Tiere zeigt einen erheblichen Unterschied im ATP-Gehalt der Leber. (s. Abb. 2)
Im Zustand der Hibernisation ist die ATP-Konzentration in der Leber um etwa 100% erhöht. Umgekehrt verhält sich die AMP-Fraktion. AMP ist im Schlafzustand signifikant vermindert. ADP ist ebenfalls angedeutet erniedrigt. Im Darm sind die Unterschiede zwischen Wach- und Schlafzustand nicht so krass wie in der Leber. Über das Verhalten der energiereichen Phosphate während der Hibernisation sind Arbeiten von FEINSCHMIDT (40) und von amerikanischen Autoren erschienen.
ZIMNY und GREGORY (41) bestimmten unter anderem auch ATP im Herzmuskel, im Skelettmuskel und in der Leber von "citellus tridecemlineatus" während einer "short-term-hibernisation" (3-5 Tage) und einer "long-term-hibernisation" (30 Tage). Hierbei zeigten sich im Herzmuskel nur geringe Abweichungen gegenüber den Kontrolltieren. Im Skelettmuskel sind der Kurzschlafwert und der Kontrollwert nahezu gleich. Während der "long-term-hibernisation sinkt die ATP-Konzentration um etwa die Hälfte ab. Für die Leber gilt, daß der Kontrollwert und der Langschlafwert sich entsprechend, während der Kurzschlafwert auf das Doppelte angestiegen ist. Die ATP-Konzentration verhält sich in den einzelnen Organen offensichtlich uneinheitlich. Außerdem wurde von ZIMNY und GREGORY bewiesen, daß der ATP-Gehalt weitgehend von der Schlafdauer abhängig ist. Auf Grund der Untersuchungen über die interfraktionellen Verschiebungen zwischen ATP-ADP und AMP im Schlafzustand, darf man annehmen, daß der erhöhte ATP-Gehalt in der Leber dadurch zustande kommt, daß die ATP-Synthese aus AMP und ADP zunächst noch weiter anhält, während der ATP-Verbrauch schon stark erniedrigt ist.

Wurden wache Siebenschläfer bestrahlt, boten sich in der Leber die gleichen Verhältnisse wie bei den Ratten.

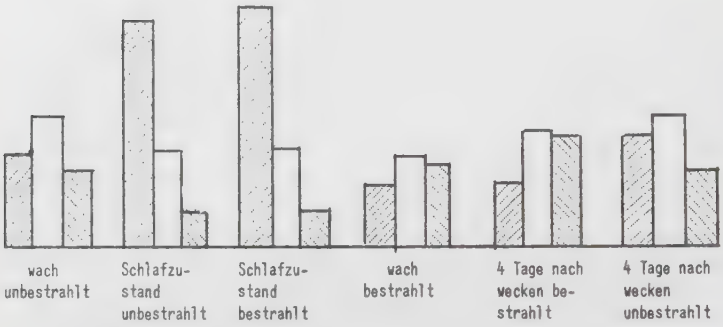

Abb. 2 Die Adeninnukleotide in der Leber von Siebenschläfern.

ATP

ADP

AMP

Wenn für den Darm nach der Bestrahlung keine signifikanten Änderungen im Nukleotidhaushalt nachzuweisen waren, so wahrscheinlich deshalb, weil die Schleimhäute des Magen- Darmtraktes nicht nur besonders strahlenempfindlich sind, sondern gleichzeitig zu jenen Organen gehören, die andererseits über ein enormes Regenerationsvermögen verfügen. Bereits kurze Zeit nach der Bestrahlung sind erhebliche Schäden in der Darmschleimhaut beobachtet worden. (41, 42) Obgleich die Darmschleimhäute zu den am schnellstens regenerierbaren Geweben gehören, ist eine Wiederherstellung der Schleimhaut 4 Tage nach der Bestrahlung nicht zu erwarten. Man muß vielmehr annehmen, daß die Schleimhautveränderungen durch den beträchtlichen Anteil des

weniger strahlenempfindlichen Bindegewebes, der Mucosa und der Serosa überdeckt werden.
Aus Abb. 2 geht weiterhin hervor, daß sich 4 Tage nach dem Aufwachen die Nukleosidkonzentrationen eingestellt haben, wie sie für den Wachzustand charakteristisch sind. ZIMNY und GREGORY (44) konnten feststellen, daß bereits 15 bis 30 Minuten nach dem Aufwachen der ATP-Gehalt in der Leber normal ist.
Bemerkenswert ist der Einfluß der Röntgenstrahlen während des Schlafzustandes der Siebenschläfer auf die Adeninnukleotide. Es zeigte sich nämlich, daß hibernisiert bestrahlte Tiere auf die Bestrahlung überhaupt nicht reagieren. Die ATP-ADP- und AMP-Konzentrationen bleiben während des Schlafzustandes unbeeinflußt von der Strahlenwirkung. Wurden diese Tiere geweckt, so zeigten sich 4 Tage nach dem Aufwachen die gleichen Veränderungen wie bei den wach bestrahlten Tieren.
Der Strahlenschaden bleibt also während der Hibernisation nur latent und tritt nach dem Aufwachen in unverminderter Stärke in Erscheinung. Ein analoges Verhalten wurde von SCHUBERT, KÜNKEL und MAASS (45) für die Serumeiweißkörper beobachtet. Die bei wach bestrahlten Siebenschläfern auftretenden Eiweißverschiebungen im Sinne einer Abnahme der Albumine und der γ Globuline, sowie einer Zunahme der α- und β-Globuline, mit ihrem Maximum zwischen dem 6. und 10. Tag nach der Bestrahlung waren bei den hibernisierten Tieren nicht signifikant nachweisbar. Erst nach dem Aufwachen zeigten sich die gleichen Verschiebungen wie bei den wach bestrahlten Tieren. Die seit langem bekannte Resistenz der hibernisierten Winterschläfer beschränkt sich keineswegs nur auf Röntgenstrahlen.
KOENNINCK (46) beschrieb bereits im Jahre 1889 eine relative Unempfindlichkeit schlafender Fledermäuse gegen Pilocarpin, Apomorphin und Strychnin. MERZBACHER (47) führte lethargischen Fledermäusen Tetanustoxindosen zu, die über 200 Meerschweinchen hätten töten können; es traten jedoch nur leichte Vergiftungser-

scheinungen auf.
Es besteht ebenfalls ein erhöhter Schutz gegen Infektionen. JANEL (48) fand Syphilis- und Sodokuinfektionen bei Siebenschläfern sehr rasch ausheilend, wenn man die Tiere während des Schlafzustandes infizierte. Dieses eigenartige Verhalten der Winterschläfer, im Zustand der Hibernisation gegen sonst tödlich wirkende Noxen nahezu unempfindlich zu sein, ist eines der markantesten Merkmale des Phänomens "Winterschlaf".
Die Temperaturabhängigkeit biologischer Strahlenwirkung wurde erstmals 1921 an Askarideneiern beobachtet (49). BORAK (50) berichtete als erster über eine gesteigerte Resistenz schlafender Siebenschläfer gegenüber Röntgenstrahlen.
KÜNKEL, HÖHNE und MAASS (51) konnten zeigen, daß mit 700 r. bestrahlte Siebenschläfer innerhalb von 30 Tagen nach der Bestrahlung sterben. An hibernisiert bestrahlten Tieren ließen sich 3 Wochen nach der Bestrahlung keinerlei äußere Schädigungen erkennen, wenn die Tiere während dieser Zeit im Schlaf verblieben. Nach Überführung der Tiere in Zimmertemperatur wurde der Strahlenschaden langsam in der gleichen Stärke, wie bei den wach bestrahlten Tieren, manifest. Intraperitoneale Cysteininjektionen vermochten noch 3 Wochen nach der Bestrahlung, also zum Zeitpunkt des Aufweckens eine 100%ige Schutzwirkung auszuüben.

Die Herabsetzung des Stoffwechsels auf ein Minimum mit weitgehender Drosselung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Abgabe, sowie eine verminderte Reizbarkeit hibernisierter Tiere sind nicht nur Symptome des Schlafzustands, sondern gleichzeitig am Zustandekommen der auffallenden Resistenz gegen Noxen aller Art ursächlich beteiligt. Die Resistenz der Adeninnukleotide während der Hibernisation ist keine spezifische Eigenschaft dieser Substanzen; sie ist offenbar nur ein Beispiel von vielen. Nach Beendigung des Schlafzustandes

wird die Noxe "Strahlen" in unverminderter Stärke wirksam. Das gilt nahezu für alle in Betracht kommenden Schäden bei einer Vielzahl von biologischen Systemen.

Wie bei Ratten ist auch bei wachen oder gerade aufwachenden Siebenschläfern eine Schutzwirkung gewisser sulfhydrylgruppentragender Substanzen nachweisbar. (52) Eine einheitliche Stellungnahme zum Mechanismus der Schutzwirkungen von Thiolverbindungen, vor allem von Cystein und Glutathion, gegenüber Röntgenstrahlen ist trotz der zahlreichen zu diesem Problem erschienenen Arbeiten nicht möglich.
Folgende Möglichkeiten werden diskutiert:
Die Thiolverbindungen bewirken eine Spaltung der Disulfidbrücken und vermögen außerdem die zelluläre Sauerstoffkonzentration herabzusetzen und somit eine Oxydation der empfindlichen SH-haltigen Enzyme zu verhindern (53). Möglicherweise kommt es auch zu einer Maskierung empfindlicher Gruppen durch Schutzstoffe während der Bestrahlung.
Es ist denkbar, daß die erhebliche Resistenz der Winterschläfer im Schlafzustand sowohl gegenüber Röntgenstrahlen als auch gegen andere Noxen ursächlich auf einen verminderten Sauerstoffpartialdruck in der Zelle zurückzuführen ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Gewebsgehalte der Adeninnukleotide ATP, ADP und AMP mittels enzymatischer Bestimmungsmethoden in verschiedenen Organen von Ratten und Siebenschläfern nach einer Ganzkörperbestrahlung mit einer Dosis von 800 r. ermittelt.

Sieht man von kleineren Abweichungen ab, so kommt es in allen Organen zu prinzipiell ähnlichen Veränderungen. Der ATP-Gehalt sinkt 14 Stunden nach der Bestrahlung ab, steigt nach weiteren 10 Stunden wieder an, ohne jedoch die Kontrollwerte zu erreichen, um nun noch massiver abzufallen. Nach dem 8. Tag erfolgt ein erneuter Anstieg als Zeichen einer sich anbahnenden Erholung.

Die AMP-Schwankungen verlaufen spiegelbildlich zu denen des ATP. Die ADP-Fraktion weist nur geringe Schwankungen auf.

Analog verhalten sich die Adeninnukleotide in der Leber von Siebenschläfern, wenn die Tiere im Wachzustand bestrahlt werden; bei den schlafend bestrahlten Tieren blieb die Strahlenwirkung auf den Adeninnukleotidhaushalt für die Dauer der Hibernisation latent, um nach dem Aufwachen der Tiere in gleicher Weise wie bei den wach bestrahlten Tieren in Erscheinung zu treten.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Dale, W.M. — Biochem. J. 34 1387 (1940)

2. Barron, E.S.G., Dickmann, S. Muntz, J.A. u. Singer, T.P. — J. gen. Physiol. 32,537 (1949)

3. Hohorst, H.J., Kreutz, F.H. u. Bücher, Th. — Biochem.Z. 332, 18-46 (1959)

4. Bücher, Th. u. Klingenberg,M. — Angew. Chemie 310, 522 (1958)

5. Holzer, H., G. Sedlmayr u. M. Kiese — Biochem.Z. 328, 176 (1956)

6. Bücher, Th. — Biochem. Z.331, 71 (1959)

7. Bettendorf, G., E. Kirsten, H.A.Künkel u. H. Maass — Strahlentherapie 112, 74 (1960)

8. Colowick, S.F. and H.M. Kalckar — J. Biol. Chem. 148, 177 (1943)

9. Fritz-Niggli, H. — Naturwissenschaften 42, 585 (1955)

10. Maass, H., G. Höhne u. H.A. Künkel — Z.Naturforschg. Bd.11b, 593 (1956)

11. Hornykiewytsch, Th. u. H. Stender — Strahlentherapie 96, 100 (1955)

12. Forssberg, A. u. G. Klein — Exp.Cell.Res. 7, 480 (1954)

13. Van Bekkum, D.W. — Biochem.Biophys. Acta 25, 487 (1957)

14. Ord, M.G. and L.A.Stocken — Biochem.J.63, 3 (1956)

15. Lutwak-Man, C. — Biochem.J. 49, 300 (1951)

16. Denson, J.R., E.J. Gray, J.L. Gray, F.H. Herbert, J.T. Tew and J. Jensen — Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 82, 707 (1953)

17. Uyeki, E.R. — Fed.Proc. 13, 413 (1954)

18. Maurer, H.J. u. K.H.Pfeffer — Klin.Wschr. 31 902 (1953)

19. Maass, H., G.Höhne, H.A.Künkel u. G.H. Rathgen — Z.Naturforschg. 12b, 553 (1957)

20. Potter, R.L., and F.H.Bethel — Fed.Proc. 11 270 (1952)

21. Ashwell, G. and J. Hickmann	Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 80, 407 (1952)
22. Van Bekkum, D.W.	Radiobiol.Symposium 1954 Buther worths London 1955 p.201
23. Van Bekkum, D.W. and O.Vos	Brit.J.Exp.Pathol.36 432 (1955)
24. Nitz,-Litzow u.G. Bührer	noch nicht publiziert, zit. nach H.Fritz-Niggli u.G. Bührer in Fortschr. Rö.-Strahlen u.d. Nuclearmedizin 92, 343 (1960)
25, Yost, H.T.u. H.H. Robson	Biol. Bull. 113, 198 (1957)
26. Ord, M.G. and L.A. Stocken	Brit.J.Radiol.28, 279 (1955)
27. Fritz-Niggli,H. u. G. Bührer	Fortschr. a.d.G.d.Rö.-Strahlen u.d. Nuklearmedizin 92 343 (1960)
28. Maass, H. u. G.H. Rathgen	Strahlentherapie 103, 668 (1957)
29. Pauly,H. u.B. Rajewsky	Strahlentherapie 99, 282 (1956)
30. Laborit, H.	zit. n. 18.
31. Gros, C.M. u. P. Mandel	Compt. rend. Acad. sc. 231 631 (1950) (zit. nach H. Ühlein, Mat.Med. Nordm. Nr. 26 März 1958)
32.	
32. Stuhlfauth, K. u. V. Struppler	Verhdl. d. Dt. Gesellsch. f.i. Medizin 60. Kongreß 1954
33. Höhne, G., R.Jaster u.H.A. Künkel	Klin.Wschr. 31, 910 (1953)
34. Bikner, R., G. Suchowsky u. J. Trautmann	Strahlentherapie 95, 407 (1954)
35. Lohmüller, T. u. H. Kirchberg	Angew.Med. 7, 430 (1953)
36. Wilhelm, G.	Strahlentherapie 97, 75 (1955)
37. Maurer, H.J. u. G. Mense	Strahlentherapie 96, 86 (1955)
38. Maurer, H.J.	Strahlentherapie 96, 625 (1955)
39. Betz, H.	zit.nach G. Gerber, Strahlentherapie 110, 510 (1959)
40. Feinschmidt, O.	Ukrain.bioch.Zurn.9,851 (1936)
41. Zimny, M.L.and R.Gregory	Reprinted from Science,May 1959 Vol. 129, No. 3359, p. 1363

42.	Gerebtzoff, M.A. and Z.M.Bacq	Experimentia 10, 341 (1954)
43.	Bacq, Z.M. and P. Alexander	"Fundamentals of Radiobiology" p. 231 Butterworths Scentific Publikations, London 1955
44.	Zimny, M.L. and R. Gregory	Am.J.Physiol. 195, 233 (1958)
45.	Schubert, G., H.A. Künkel u. H. Maass	Strahlentherapie 103, 368 (1957)
46.	Koenninck, A.	Arch.Anat.Physiol. 1899, 389
47.	Merzbacher, L.	Erg. Phisiol.3 (1904/II), 214
48.	Jahnel, F.	Z. Immun.-Forsch. 91 318 (1937)
49.	Holthusen, H.	Pflügers Arch. ges. Physiol. 187, 644 (1921)
50.	Borak, J.	Wien.klin.Wschr. 49 (1936) 109
51.	Künkel, H.A., H. Maass u. G. Höhne	Z. Naturforschung 12b, 144 (1957)
52.	Ühlein, H.	Mat.Med.Nordmark Nr. 26 März 1958
53.	Hagen, U. u. R. Koch	Z. Naturforschung 12b, 240 (1957)

Lebenslauf

Am 2. Februar 1936 wurde ich in Schmaatz in Pommern als Sohn des Landwirts Albert Lüllwitz geboren. Nach zweijähriger Volksschulzeit in Schmaatz wurde der Schulbesuch durch die Besetzung durch russische Truppen unterbrochen. Unter der polnischen Verwaltung von 1945 bis 1947 ruhte aller Schulbetrieb. 1947 wurden meine Eltern nach Hartha in Sachsen ausgesiedelt. 1950 habe ich die achtklassige Volksschule in Hartha verlassen und die Oberschule in Rochlitz besucht. Zum Wintersemester 1954 erhielt ich, nachdem ich im Juli die Reifeprüfung abgelegt hatte, die Zulassung zum Medizinstudium an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität in Greifswald. Nach dem 2. Semester setzte ich mein Studium an der Humboldt-Universität in Berlin fort. Im Sommer 1956 habe ich die ärztliche Vorprüfung bestanden und weitere vier klinische Semester in Berlin gehört. Im Sommersemester 1958 wechselte ich zur Hamburger Universität und habe hier noch drei Semester gehört. Im Herbst 1959 habe ich in Hamburg mein Staatsexamen abgelegt.
Die klinischen Pflichtfächer meiner Medizinalassistentenzeit habe ich von Januar 1960 bis Mai 1961 in Füssen und in Rheine verbracht.
Seit Juni 1961 bin ich am Pathologischen Institut der Berufsgenossenschaftlichen Krankenanstalten "Bergmannsheil" in Bochum tätig.

Ich danke Herrn Prof. Schubert für die Überlassung des Themas und für die Erlaubnis zur Durchführung der experimentellen Untersuchungen in der Universitäts-Frauenklinik Hamburg Eppendorf.
Herrn Dr. Maass danke ich für seinen freundlichen Rat und seine tatkräftige Hilfe.